

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE NEUROPROTETORA DO GM1 FRENTE À TOXICIDADE DO PEPTÍDEO B-AMILÓIDE EM CÉLULAS DE NEUROBLASTOMA HUMANO SH-SY5Y

Ana Luíza Rodrigues Fragoso Prof. Vera Maria T. Trindade
(Dep. Bioquímica - ICBS - UFRGS)
ana.fragoso@ufrgs.br

INTRODUÇÃO

A doença de Alzheimer (DA) é uma desordem neurodegenerativa que afeta irreversivelmente a memória e outras funções cognitivas. Um dos mecanismos de patogenia da doença se dá pela clivagem da proteína precursora amilóide, glicoproteína presente nas membranas neurais, por β - e γ -secretases, com a consequente liberação do peptídeo β -amilóide (A β), processo denominado amiloidogênese, e sua agregação na forma de oligômeros ou fibrilas, formando as placas senis. A interação do A β com as membranas neurais parece ser essencial ao processo de agregação do peptídeo, ao desencadeamento de sua toxicidade e ao ciclo patológico estabelecido entre a deposição do A β e o estímulo, em cascata, da amiloidogênese(1). Estudos mostram que o GM1, um gangliosídeo presente em microdomínios de membrana, seria o responsável pela ligação do A β com as mesmas (2).

Levando em consideração a literatura (3) e dados prévios do grupo (4), há evidências de que o GM1 possui efeito neuroprotetor em modelos *in vivo* e *in vitro* de DA através da administração exógena de GM1, reduzindo a toxicidade do peptídeo A β . Estes resultados revelam uma potencial alternativa de tratamento para a doença, porém o mecanismo pelo qual esse processo ocorre ainda é desconhecido.

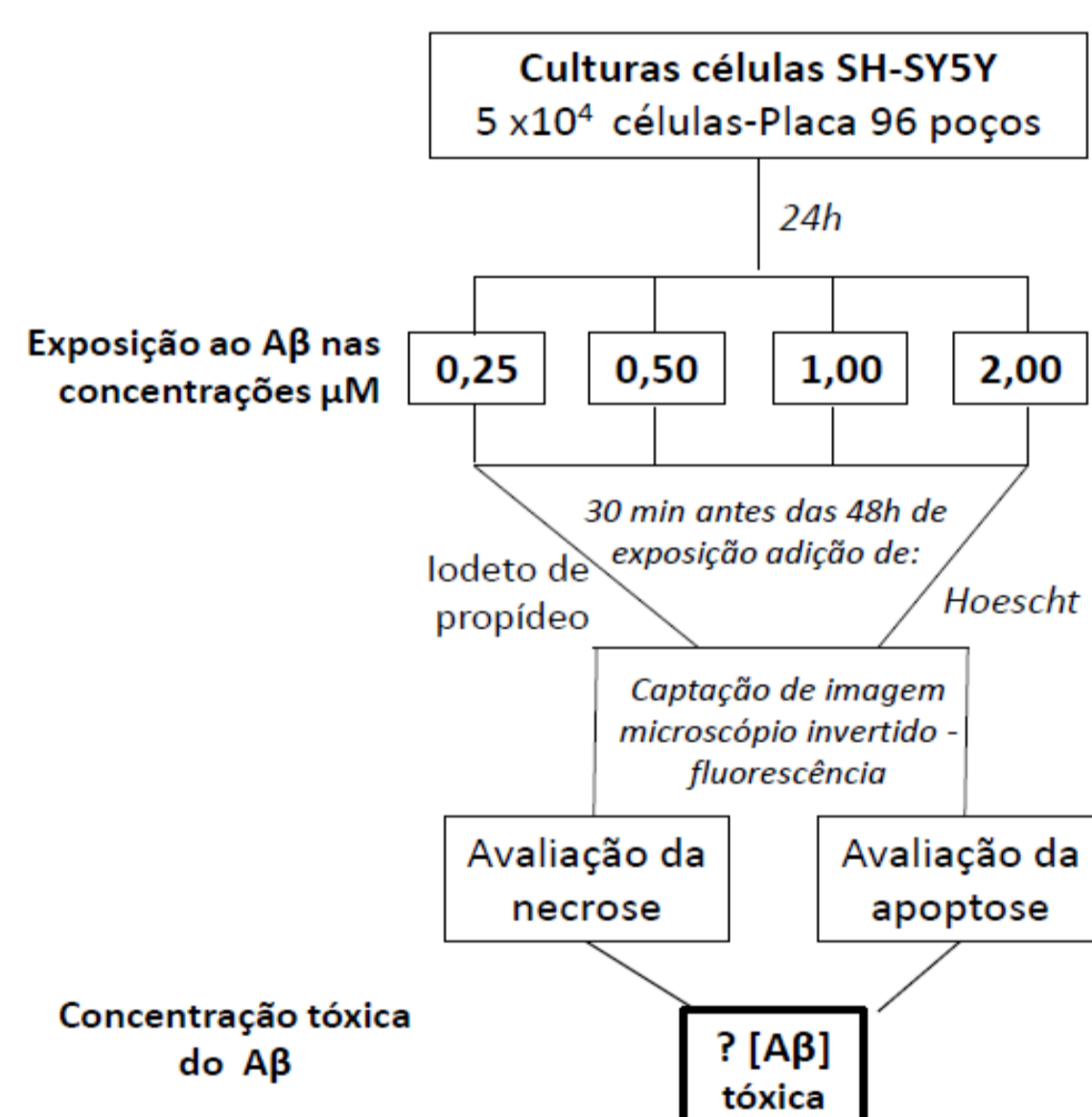
No presente trabalho, foi utilizado um modelo *in vitro* para o estudo da DA, o qual utiliza células de neuroblastoma humano (linhagem SH-SY5Y) expostas à ação neurotóxica do A β pela administração exógena do mesmo.

OBJETIVOS

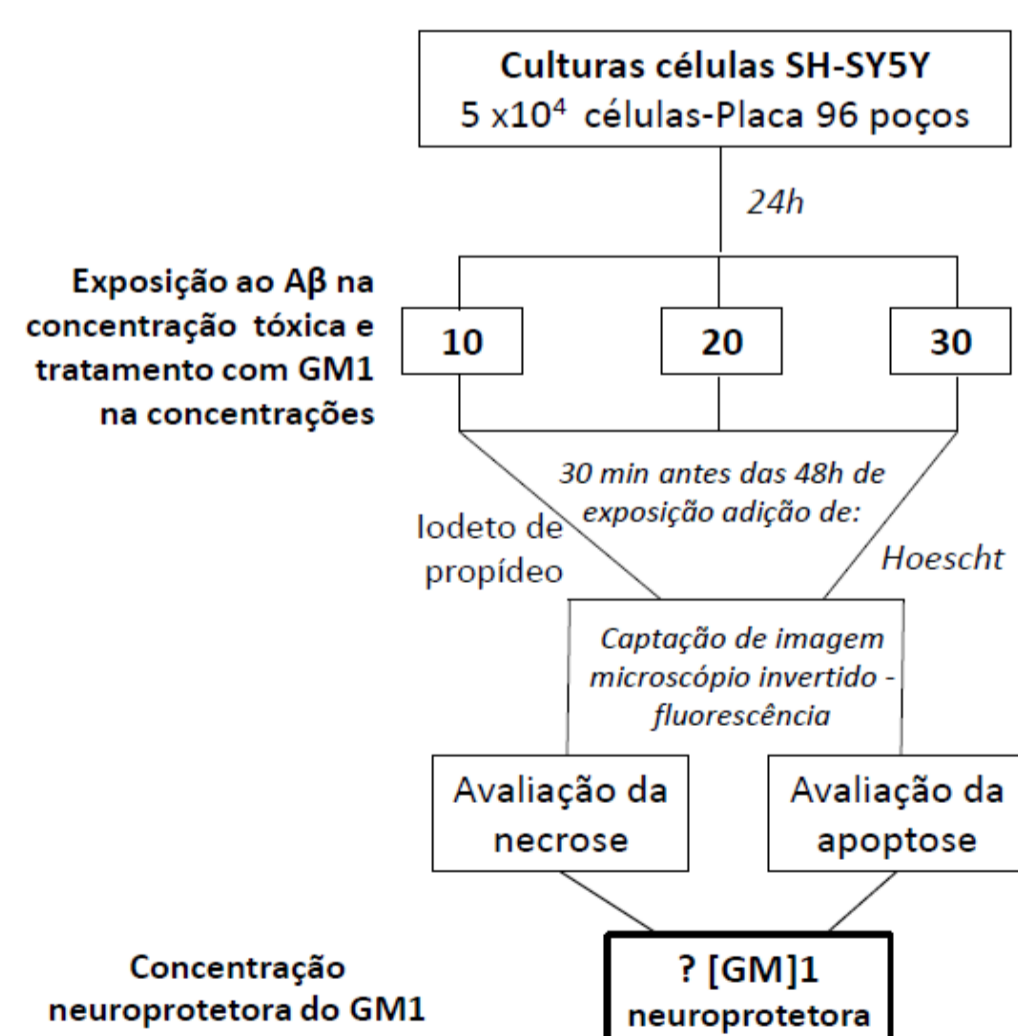
1. Avaliar o efeito neuroprotetor do GM1 exogenamente administrado à cultura de células da linhagem SH-SY5Y expostas ao A β ;
2. Investigar se a potencial neuroproteção seria mediada pela capacidade do GM1 de interagir com o A β , sequestrando ou neutralizando o peptídeo, e assim, impedindo sua ligação às membranas neurais.

METODOLOGIA

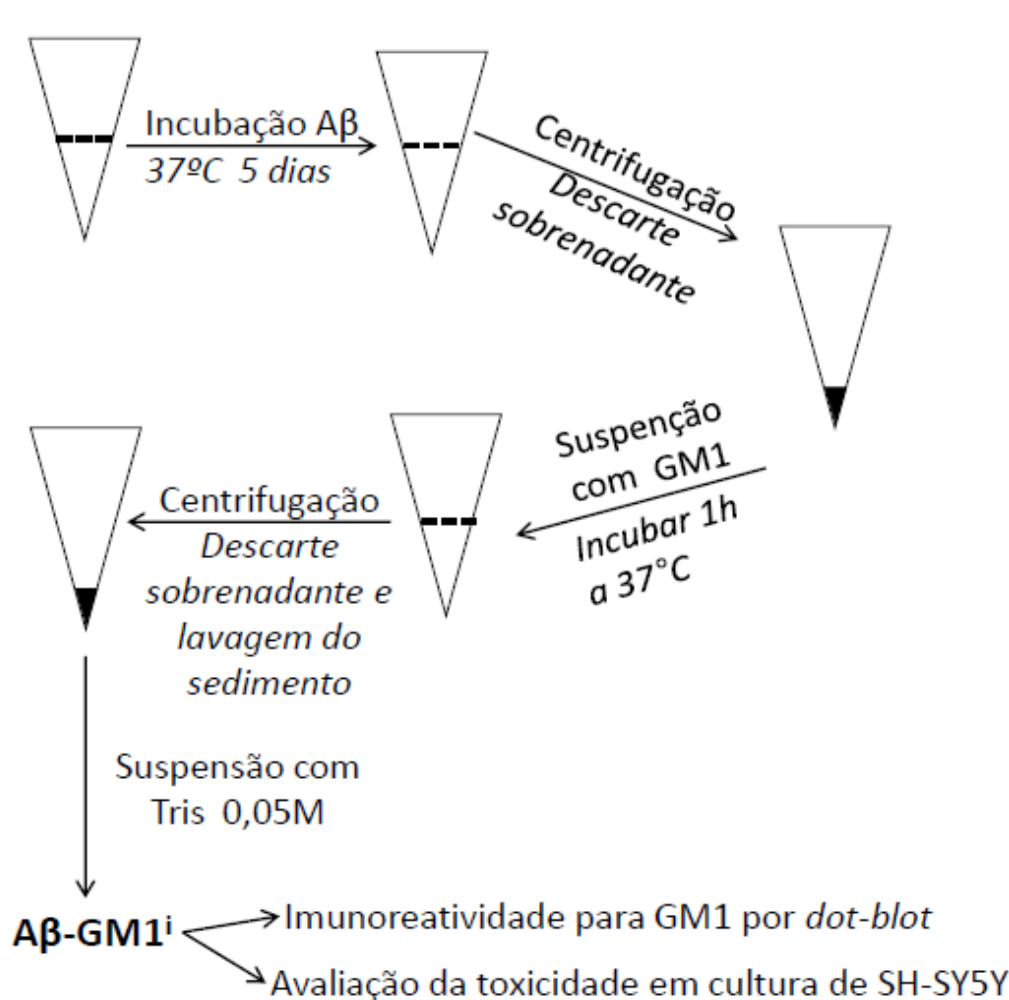
Determinação da concentração tóxica do A β para as células SH-SY5Y



Determinação da concentração neuroprotetora de GM1 para as células SH-SY5Y expostas à concentração tóxica do A β



Co-incubação *in vitro* do A β na concentração tóxica e de GM1 na concentração neuroprotetora para as células SH-SY5Y



RESULTADOS

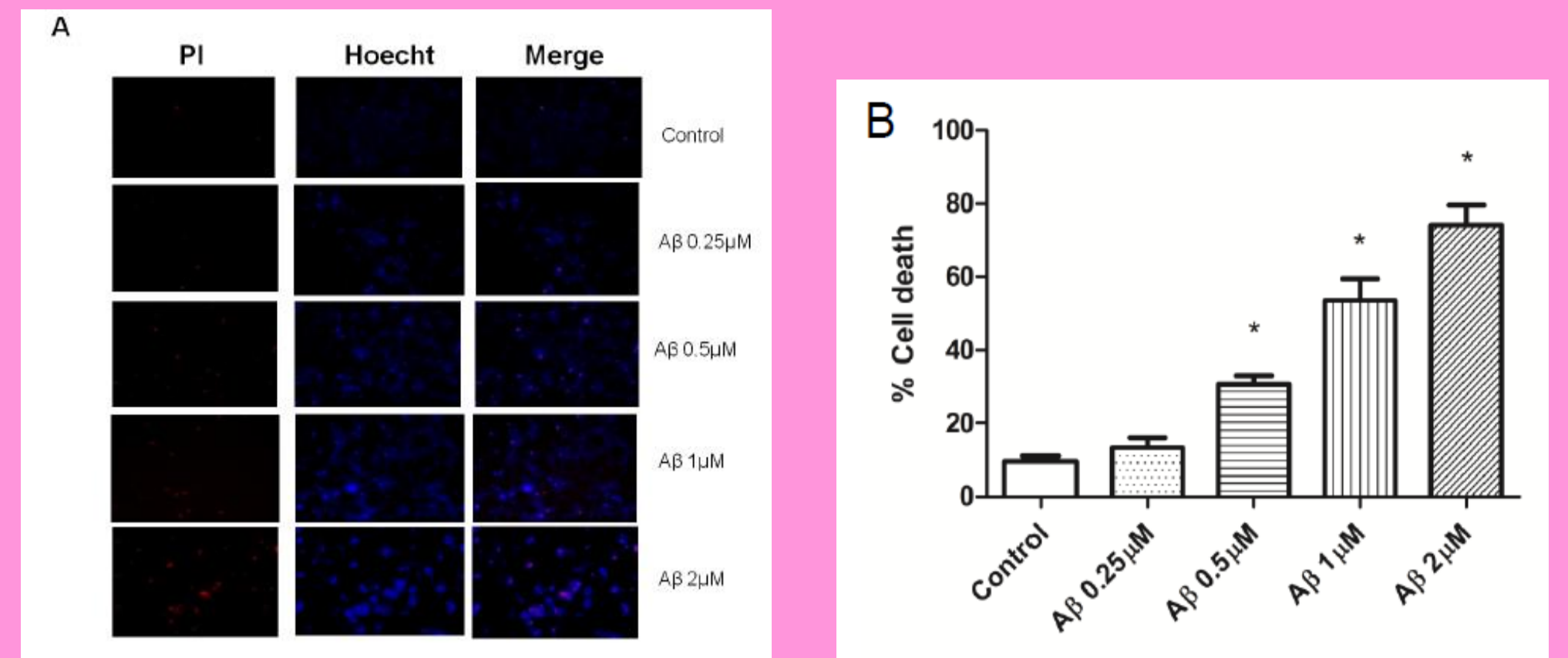


Fig. 1. Efeito da exposição do peptídeo A β fibrilado sobre culturas de SH-SY5Y. A) Fotomicrografias representativas das células expostas a diferentes concentrações de β A ou condições controle e marcadas com iodeto de propídeo (PI), corante Höscht e merge; B) Quantificação da morte celular. Barras correspondente à média DP. * Significativamente diferente do controle (ANOVA uma via seguida por teste de Tukey $p < 0,05$)

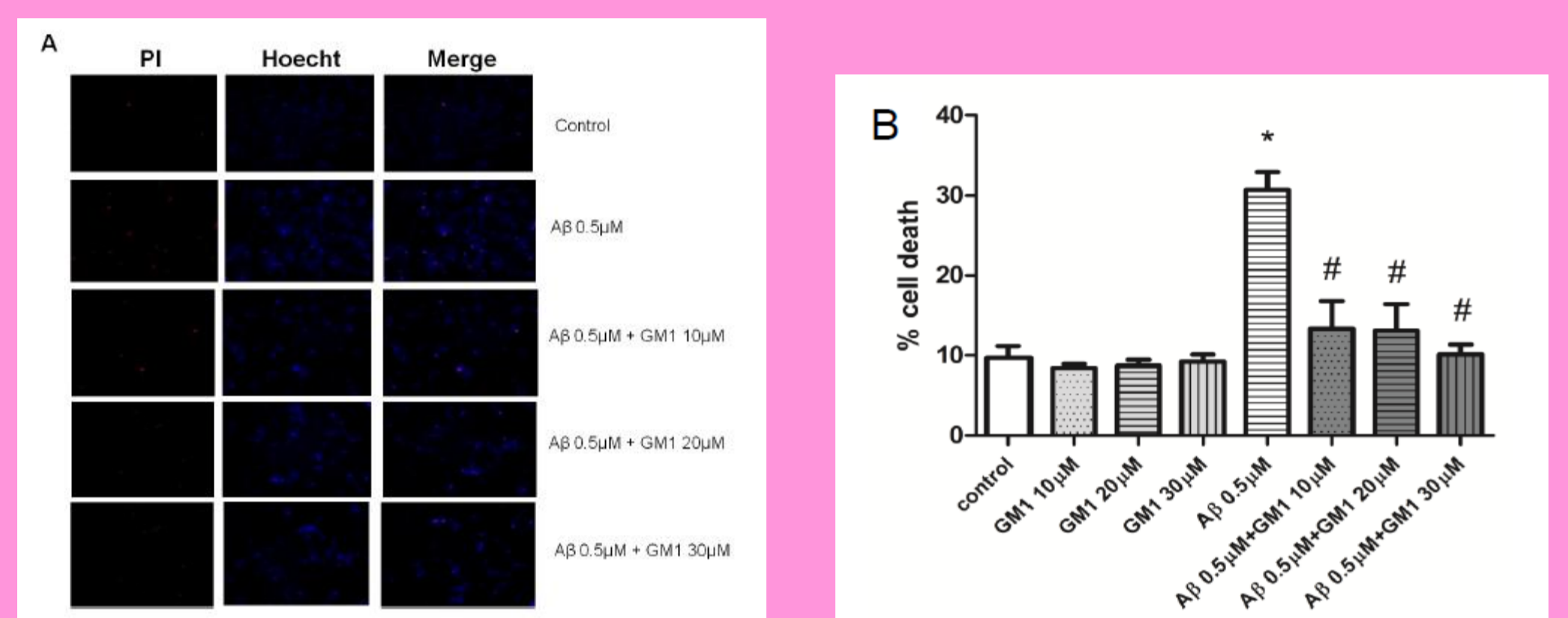


Fig. 2. Efeito neuroprotetor do GM1 contra a morte celular induzida por A β . A) Fotomicrografias representativas das células expostas a condições controle, A β 0,5 μ M, e/ou GM1 (10, 20 ou 30 μ M) e marcadas com iodeto de propídeo (PI), corante Höscht e merge; B) Quantificação da morte celular. Barras correspondente à média DP. * Significativamente diferente do controle. # Significativamente diferente do grupo A β (ANOVA uma via seguida por teste de Tukey $p < 0,05$)

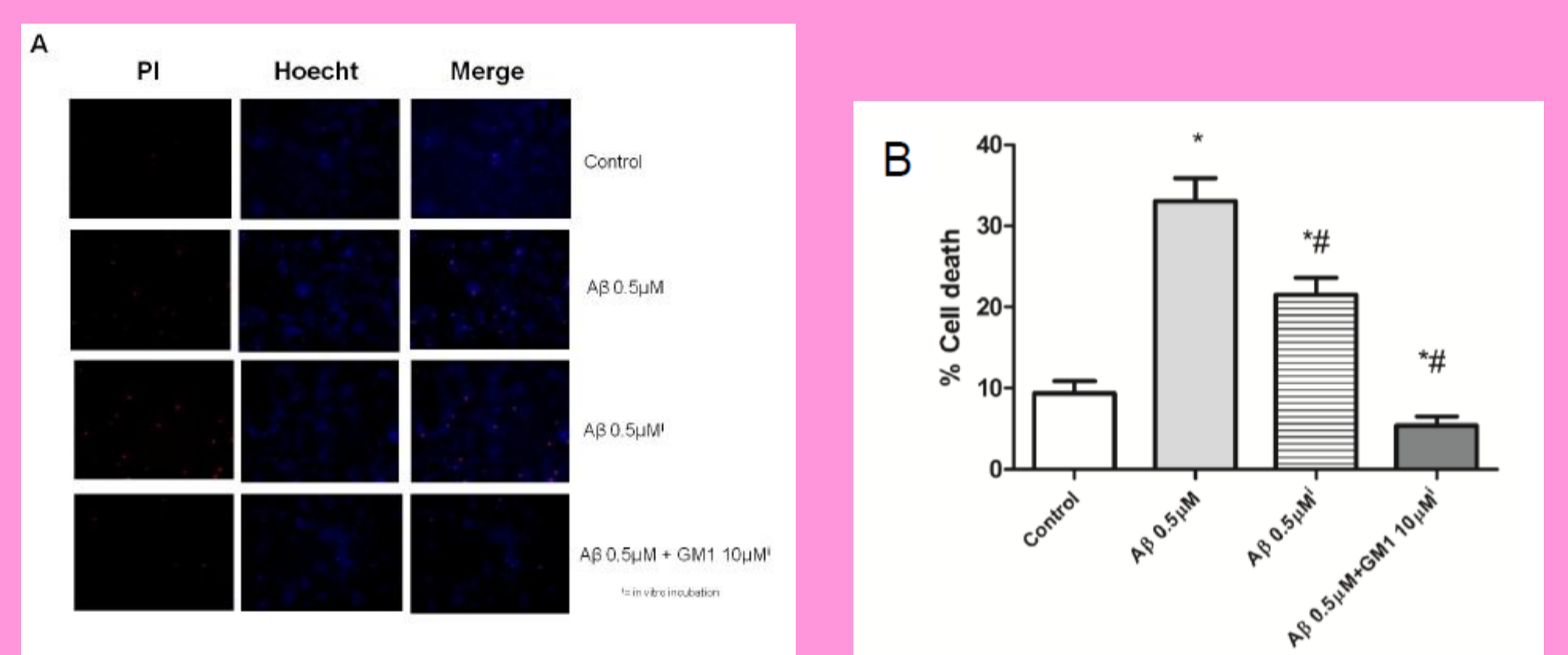


Fig. 3. Efeito da incubação prévia de A β -GM1 *in vitro* sobre a toxicidade induzida por A β . A) Fotomicrografias representativas das células expostas a condições controle, A β ⁱ e A β GM1ⁱ e marcadas com iodeto de propídeo (PI), corante Höscht e merge; B) Quantificação da morte celular. Barras correspondente à média DP. * Significativamente diferente do controle. # Significativamente diferente do grupo A β . (ANOVA uma via seguida por teste de Tukey $p < 0,05$)



Fig. 4. Co-sedimento A β e de GM1 após incubação prévia *in vitro*. Imunodeteção de GM1 por dot-blot.

CONCLUSÕES

O gangliosídeo GM1, exogenamente administrado, foi capaz de promover neuroproteção frente ao dano causado pelo A β através de sua capacidade de interagir e neutralizar o peptídeo, possivelmente impedindo sua interação com as membranas neurais e todos os eventos neuroquímicos decorrentes da mesma.

REFERÊNCIAS

1. Suh, Y.; Checler, F. *Pharmacol. Rev.* 54: 469-525, 2002.
2. Lai AY, McLaurin J. *Int J Alzheimers Dis.* 2011:548380, 2011.
3. Sokolova TV, Zakharaova IO, Furaev VV, Rychkova MP, Avrova NF. *Neurochem Res.* 32(8):1302-1313, 2007.
4. Kreutz, F. et al. *Neurochem Int.* 59(5):648-55, 2011.

AGRADECIMENTOS

Suporte Científico: Doutorando Fernando Kreutz, Bolsista de Iniciação Científica Marina Michelsen, Professora Christianne G. Salbego, Professora Leticia Pettenuzzo. **Suporte Técnico:** Bolsista Taíse Goulart. **Suporte Financeiro:** PIBIC-CNPq/UFRGS, PROBIC- FAPERGS/UFRGS, CNPq.